

Protein Extraction Kit (Medium)

蛋白提取试剂盒（中）

Cat Number: GPP1815 Store at -20°C for 12 months For Research Use Only

一 产品组份

组分名称	GPP1815	保存条件
	100T	
Protein Extraction Reagent (Medium)	100ml	-20°C
Protease Inhibitor Cocktail	1ml	

二 产品简介

本产品应用于组织/细胞样本的总蛋白提取。提取蛋白之前可根据具体实验需要加入蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂 (GPP1825)。使用该提取液提取的组织/细胞蛋白，可进行蛋白活性分析、免疫检测、蛋白纯化等下游操作，并可采用 BCA、Bradford、Lowry 法进行蛋白定量。试剂盒中带有蛋白酶抑制剂混合物，可有效避免蛋白提取过程中蛋白的降解。

三 注意事项

- (1) 本产品适用于提取心肌、骨骼肌、肾脏、前列腺、皮肤、结肠、肝脏等软组织，贴壁细胞、悬浮细胞。
- (2) 为防止蛋白降解，所有的操作尽量在冰上进行。
- (3) 为了获得实验最佳效果，请根据实验调整最佳使用量。

四 操作步骤

1. 细胞样本

a. 贴壁细胞蛋白提取

- (1) 小心倾去贴壁细胞的培养液。
- (2) 可选步骤：若培养基中含有酚红或其他可能影响实验结果的物质，请先使用预冷的 PBS 漂洗细胞。

- (3) 加入适量 Protein Extraction Reagent (Medium) (使用前 2-3 分钟内加入 Protease Inhibitor Cocktail), 试剂使用量请参考附表 1, 在冰上用枪头吹打贴壁细胞。

表 1 贴壁细胞 Protein Extraction Reagent (Medium) 裂解液使用量推荐表

细胞培养板类型或培养面积	Protein Extraction Reagent (Medium) 裂解液使用量
100 mm	500-1,000 μ l
60 mm	250-500 μ l
6 孔培养板	200-400 μ l /孔
24 孔培养板	100-200 μ l /孔
96 孔培养板	50-100 μ l /孔

- (4) 将裂解液转移至新的离心管中, 冰上孵育 30 分钟, 使细胞充分裂解。

- (5) 12,000 \times g 离心 10 分钟。转移上清液至新管中, 进行下一步分析。

b. 悬浮细胞蛋白提取

- (1) 悬浮细胞, 2,500 \times g 离心 5 分钟, 弃去上清。

- (2) 可选步骤: 若培养基中含有酚红或其他可能影响实验结果的物质, 请使用 PBS 漂洗细胞。漂洗后的细胞悬浮液 2,500 \times g 离心 5 分钟, 弃去上清。

- (3) 加入适量 Protein Extraction Reagent (Medium) (使用前 2-3 分钟内加入 Protease Inhibitor Cocktail), 每 5×10^6 细胞加入约 200-500 μ l Protein Extraction Reagent (Medium), 吹打均匀。

- (4) 将裂解液转移至新的离心管中, 冰上孵育 30 分钟, 使细胞充分裂解。

- (5) 12,000 \times g 离心 10 分钟。转移上清液至新管中, 进行下一步分析。

2. 组织样本

- (1) 取适当的 Protein Extraction Reagent (Medium), 在使用前 2-3 分钟内加 Protease Inhibitor Cocktail。

- (2) 称量实验组织的重量, 按照 1:10 (g/ml) 的比例加入 Protein Extraction Reagent (Medium) 后将组织剪成细小碎片, 用电动匀浆器匀浆处理。若需要浓缩的蛋白提取物, 可适当减少组织蛋白抽提试剂使用量。

- (3) 冰上孵育 30 分钟, 使细胞充分裂解。

- (4) 12,000 \times g 离心 10 分钟。转移上清液至新管中, 进行下一步分析。

注: 裂解液的裂解产物中可能会出现一小团透明胶状物, 属正常现象。该透明胶状物为基因组。